



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de Grado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos

Microbiota de las masas madre

Sourdough microbiota

Autor/es

Julia Gómez Ibáñez

Director/es

M^a Carmen Rota García
Domingo Blanco Parmo

Facultad de Veterinaria

2021

Índice:

Resumen.....	3
Abstract	4
Listado de abreviaturas	5
1. Introducción	6
1.1 Definición de pan	6
1.2 Definición de masa madre	7
1.3 Elaboración y clasificación de las masas madre	8
1.3.1 Masas madre estilo francés.....	8
1.3.2 Masas madre estilo americano	9
1.3.3 Masas madre tradicionales	9
1.3.4 Masas madre industriales	9
1.3.5 Masas madre tipo III.....	10
1.4 Propiedades de las masas madre	10
2 Justificación y Objetivos	11
3 Metodología	12
4 Resultados y discusión	13
4.1 Principales grupos microbianos responsables de la obtención de las masas madres	13
4.1.1 Levaduras	14
4.1.2 Bacterias ácido-lácticas	16
4.2 Sinergias entre los microorganismos	18
4.3 Fermentación de las masas madre	19
4.3.1 Fermentación alcohólica	21
4.3.2 Fermentación homoláctica.....	22
4.3.3 Fermentación heteroláctica	23
4.4 Influencia de la harina en las características de las masas madre.....	23
4.5 Conservación de las masas madre	26
5 Conclusiones.....	27
Conclusions	27
Valoración personal	28
6 Bibliografía	29

RESUMEN

Las masas madre se elaboran con una mezcla de harina y agua, principalmente. En la harina se pueden encontrar una gran cantidad de grupos microbianos que le darán diferentes propiedades a las mismas, debido a que éstos van a utilizar los nutrientes presentes en la harina proporcionando una serie de componentes como son exopolisacáridos y ácidos orgánicos.

En los últimos años, el uso de las masas madre para la elaboración del pan y productos de panificación se ha ido incrementando, puesto que aportan una serie de características tanto tecnológicas como nutritivas que atraen cada día más a los consumidores. Por este motivo, es necesario comprender las características que hace que éstas sean tan importantes en la elaboración de las masas panarias.

Gracias a los numerosos estudios que se han realizado para conocer la microbiota de las masas madres, se sabe que los grupos microbianos que se encuentran con más frecuencia en éstas son bacterias ácido-lácticas (BAL), que van a llevar a cabo una fermentación láctica, y levaduras, que realizan una fermentación alcohólica. Estos grupos microbianos van a interactuar entre sí de manera sinérgica, aunque también pueden inhibir el crecimiento de uno u otro grupo microbiano, ejerciendo un efecto antagónico.

Las formas de conservar las masas madre son muy diversas y depende del uso que se les vaya a dar. En el caso de que se quiera conservar a muy largo plazo porque no se va a utilizar de manera inmediata, es preferible congelarla o desecarla; sin embargo, si se va a emplear en un plazo corto de tiempo, es preferible almacenarla en refrigeración con unas condiciones específicas, además de “refrescarla” de vez en cuando.

Tras la búsqueda y análisis de información para redactar este TFG, se concluye que es imprescindible que se siga ahondando en el tema de las masas madre, así como en su microbiota, para poder completar muchas dudas que todavía quedan sin resolver.

ABSTRACT

The sourdough is a mixture of flour and water. In flour you can find a lot of microbial groups that will give different properties to them, because these will use the nutrients present in the flour by providing a few components such as exopolysaccharides or organic acids.

In recent years, the use of sourdough to produce bread and bread products has been increasing, since they provide a series of technological and nutritional characteristics that attract more and more consumers every day. For this reason, it is necessary to understand the characteristics that make these so important in the elaboration of the bakery masses.

Thanks to the numerous studies that have been carried out to know the microbiota of the sourdough, it is known that the microbial groups that are most frequently found in these are acid-lactic bacteria (BAL), which will carry out a lactic fermentation, and yeasts, which undergo alcoholic fermentation. These microbial groups will interact with each other synergistically, although they can also inhibit the growth of one or the other microbial group, exerting an antagonistic effect.

The ways to preserve this type of product are very different depending on the use. If it is to be kept for the very long term because it is not to be used immediately, it is preferable to freeze or dry it; however, if it is to be used in a short period of time, it is preferable to store it in refrigeration under specific conditions, in addition to "refreshing" it from time to time.

After the search and analysis of information to write this TFG, it is concluded that it is essential to continue delving into the subject of sourdough, as well as their microbiota, to be able to complete many doubts that still remain unresolved.

LISTADO DE ABREVIATURAS

ABREVIATURA	PALABRA O PALABRAS
MMC	Masa madre de cultivo
EPS	Exopolisacáridos
CO ₂	Dióxido de carbono
O ₂	Oxígeno
BAL	Bacterias ácido lácticas
E.	<i>Enterococcus</i>
Lb.	<i>Lactobacillus</i>
Lc.	<i>Lactococcus</i>
Le.	<i>Leuconostoc</i>
P.	<i>Pediococcus</i>
W.	<i>Weissella</i>
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa
WLN	Wallestein Laboratory Nutrient
mMRS	Agar modificado de Man, Rogosa y Sharpe
mSDB	Agar modificado Sourdough Bacteria
TTA	Acidez Total Titulable

1. INTRODUCCIÓN

La elaboración de pan y otros productos de la panificación con masas madre ha ido cobrando interés en estos últimos años, debido a la tendencia actual por recuperar el pan tradicional elaborado antes de la industrialización y a la concienciación social acerca de los beneficios y mejoras que conlleva su aportación a la masa panaria. Los panes confeccionados con masas madre presentan mejor calidad organoléptica (más aroma y sabor) y nutritiva, y disponen de mayor vida útil que el pan convencional. Dichos beneficios son atribuidos a su elaboración mediante una fermentación natural de la masa constituida por harina y agua.

Antiguamente, el consumo de pan, elaborado o no con masa madre, estaba asociado a consumidores de menor poder adquisitivo, como alimento básico y fundamental. Sin embargo, en la sociedad griega, la ingesta de pan estaba relacionada con las familias más adineradas. Los egipcios descubrieron que una mezcla de harina y agua, a la que se dejaba un cierto tiempo antes de hornear producía panes más voluminosos, suaves y ligeros. Asimismo, estos se percataron de que, añadiendo a la masa panaria de manera intencionada otros productos fermentados. Como espuma de cerveza, conseguían que los panes una vez horneados tuvieran un tamaño y un sabor mayor del habitual (Gobbetti y Gänzle, 2013).

1.1 Definición de pan

De acuerdo con el Real Decreto 308/2019, por el que se aprueba la norma de calidad del pan, se define este como “el producto resultante de la cocción de una masa obtenida por la mezcla de harina de trigo y agua, con o sin adición de sal, fermentada con la ayuda de levadura de panificación o **masa madre**”. A su vez, el “pan común” es aquel que responde a la definición de pan, anteriormente señalada, de consumo habitual en las veinticuatro horas siguientes a su cocción, y elaborado con harina o harina integral de cereales, que puede incorporar en su composición salvado de cereales.

Dentro de las denominaciones que puede recibir el pan común, y que, por lo tanto, pueden incluir masa madre en su composición se encuentran:

- **Pan bregado**, de miga dura, español o candeal que “es el obtenido mediante un proceso de elaboración en el que es indispensable el uso de cilindros refinadores. La miga de este tipo de pan será blanca y con alveolos finos y uniformes”

- **Pan de flama** o de miga blanca, elaborado con una mayor proporción de agua que el pan bregado, no precisa normalmente el proceso de refinado con cilindros. La miga de este tipo de pan tendrá alveolos más irregulares, en forma y tamaño, que los del pan bregado”
- **Pan integral**, “es pan elaborado con harina integral o de grano entero”, además, “la masa madre utilizada para la elaboración de «pan 100 % integral» deberá proceder igualmente de harina integral. La masa madre utilizada para la elaboración del resto del pan integral podrá proceder de harina no integral, la cual se tendrá en cuenta en el cálculo para establecer el porcentaje de harina integral utilizada
- **Pan elaborado con harinas de cereales**, “es el elaborado con harina de cereales distintos al trigo”.

Por otro lado, cabe destacar que la masa madre puede ser incorporada para la elaboración de los “panes especiales” que son aquellos que por su composición o por su método de elaboración no están incluidos en la definición de pan común. Algunas denominaciones de panes especiales son: panes elaborados con harina de cereales y otras harinas distintas a la harina de trigo, pan multicereal, pan de Viena, de nieve o bombón, pan tostado, biscote, colines, regañás o picos, pan de molde, pan rallado y otros panes especiales.

1.2. Definición de masa madre

La masa madre de cultivo (MMC) se define según el Real Decreto 308/2019 como “la masa activa compuesta por harina de trigo o de otro cereal, o mezclas de ellas, y agua, con o sin adición de sal, sometida a una fermentación espontánea acidificante cuya función es asegurar la fermentación de la masa de pan. La masa madre contiene una microbiota que realiza una fermentación acidificante y alcohólica constituida esencialmente por bacterias lácticas (BAL) y levaduras salvajes”.

No todas las masas madres son iguales puesto que cada una está elaborada con diferente proporción de harina y agua. Además, cada una dispondrá de una cantidad de levaduras y bacterias ácido-lácticas (BAL) distinta aportando al pan características diferenciadas (Pétel et al., 2017).

Es relevante que se distinga, en la producción de pan y uso de las masas madre, dos términos muy importantes: masas madre de cultivo (MMC) y masas madre inactivas (MMI). Las primeras tienen una mayor presencia de BAL y levaduras indígenas viables y en la segundas los

microorganismos se encuentran en un estado fisiológicamente inactivo por haber sido sometidas a un tratamiento de secado, pasteurización o equivalente, pero que conserva las propiedades organolépticas que mejoran la calidad de los productos finales (Real Decreto 308/2019).

Por otro lado, según Ramón (2018), las masas madre elaboradas a partir de la incorporación de levadura fresca en polvo de tipo industrial o liofilizada tiene una baja concentración de BAL, y no van a generar los efectos positivos esperados. En el momento en el que se aportan BAL a la masa panaria, los atributos que mejoran en el pan son los relacionados con el sabor, la vida útil y las características organolépticas. Además, incrementan el poder acidificante por la producción de ácido láctico, y de esta manera favorecen la degradación del gluten y mejoran la absorción de nutrientes.

El proceso de refrescar las masas madre se basa en sustentar los grupos microbianos que están presentes en la misma para que estos sigan vivos y activos, este refresco consiste en mezclar parte de la masa madre original con una determinada cuantía de harina de trigo y agua en una menor cantidad (Lancetti, 2017). Si las MMC se mantienen a temperatura ambiente, habrá que hacer refrescos con mayor frecuencia que si se conservan bajo refrigeración puesto que con temperaturas más bajas se ralentiza el metabolismo microbiano (Chapela, 2020).

1.3 Elaboración y clasificación de las masas madre

Las masas madre pueden elaborarse de maneras muy diversas, sin embargo, todas ellas han de tener en común la presencia inicial de agentes fermentantes que produzcan suficiente cantidad de CO₂, EPS y otros metabolitos, como ácidos orgánicos (Lara, 2015).

1.3.1 Masas madre estilo francés

Según Corsetti (2013), una de las maneras de elaborar masa madre es mediante el sistema francés, que consiste en adicionar a una masa de harina de trigo con poca agua, sal y malta molida. De esta forma, en la masa se inicia una fermentación que dura 24 horas. En ella, se producen pequeñas cantidades de CO₂, etanol y ácidos orgánicos por la acción de las BAL y las levaduras. A continuación, se realiza un refresco que se basa en añadir a la masa madre la mitad de agua en base a su peso y, posteriormente, adicionar el peso de la masa madre en harina (Boserman, 2021). Con ello se oxigena la masa tras el amasado y se introducen hidratos de

carbono que potencian el crecimiento y rendimiento de las BAL y las levaduras. Los refrescos se realizan en un intervalo de tiempo regular para mantener un equilibrio (Corsetti, 2013).

1.3.2 Masas madre estilo americano

Por otro lado, de acuerdo con Corsetti (2013) la producción de masa madre al estilo americano se basa en el uso de agua y harina de trigo y/o centeno y durante la primera fase de fermentación de esta masa madre, las condiciones de tiempo y temperatura están muy controladas (32-35°C / 24 horas). Posteriormente, se realiza un primer refresco añadiendo harina y agua a la masa madre y a las 8 horas de fermentación a 32-35°C, se realiza un segundo refresco seguido de 16 horas de fermentación. A continuación, se realizarán otros refrescos cada 8-16 horas / 24-27°C.

En ambos tipos de preparaciones de la masa madre (sistema francés y americano), se pretende disminuir su pH mediante su fermentación, teniendo esta que llegar, para asegurar la fermentación de la masa de pan, antes de su incorporación a la misma, a valores inferiores a 4,2. Además, la masa de pan antes de su cocción, y el pan cocido, deberán tener un pH inferior a 4,8 en el caso de que se empleen masas madre en su elaboración. Todos estos valores vienen recogidos en el Real Decreto 308/2019, por el que se aprueba la norma de calidad para el pan.

1.3.3 Masas madre tradicionales

Según Lancetti (2017), las masas madre tradicionales o masas madre tipo I son aquellas que se producen realizando refrescos diarios durante una semana. De esta manera, se consigue que los microorganismos continúen activos puesto que se les aporta nuevos nutrientes de forma periódica. Estas masas madre se mantienen a temperatura ambiente (<30°C). Además, según Cortés (2016), los microorganismos que normalmente suelen estar presentes en este tipo de masas madre son BAL del Gº *Lactobacillus* y tanto especies homofermentativas (*L. sanfranciscensis*), como heterofermentativas (*L. brevis*, *L. fermentum* o *L. fructivorans*), así como diversas levaduras de los géneros *Candida* y *Saccharomyces*. En este caso, no sería necesario la adición de levaduras de panificación.

1.3.4 Masas madre industriales

Por otro lado, las masas madre industriales o masas madre tipo II se elaboran a partir de una fermentación larga entre 2 y 5 días a temperaturas superiores a 30°C. Como resultado se suele obtener una masa madre fluida o líquida que no se emplea para leudar, sino para acidificar la masa panaria y mejorar sus características organolépticas (Lancetti, 2017). Según Cortés (2016),

el tipo y la cantidad de microorganismos que se aportan en este tipo de masas madre puede ser seleccionado por la industria, pero, habitualmente, los que suelen aparecer son *L. amylovorus*, *L. fermentum*, *L. pontis* y *L. reuteri*. Para generar esta masa madre es necesario añadir levadura de panadería.

1.3.5 Masas madre tipo III

Finalmente, las masas de este tipo están deshidratadas o secas. Los panaderos suelen optar por ellas ya que su utilización es mucho más rápida que la de las masas madre tipo I que tiene que estar varios días fermentando. Además, se suelen utilizar porque el pan que es elaborado con estas tiene unas características organolépticas muy similares a los panes producidos con masas madres tradicionales. Las principales BAL presentes en esta masa madre son *Pediococcus pentosaceus*, *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus brevis*. Al igual que en las industriales, en este caso también resulta necesario adicionar levaduras de panadería. (Cortés, 2016)

1.4 Propiedades de las masas madre

El uso de MMC en la elaboración del pan, hace que éste adquiera una serie de propiedades tecnológicas y saludables que lo diferencian del resto de panes.

En cuanto a, las **propiedades tecnológicas** que conlleva el uso de MMC son muy diversas. Concretamente, al generarse ácidos orgánicos durante la fermentación de la masa madre se reduce el pH actuando como un antimicrobiano natural, mejorando de esta forma su conservación. Además, este descenso del pH, unido a la acción de algunas enzimas (amilasas, proteasas y fitasas presentes en la harina) hace que se pierda y degrade la estructura del gluten.

En relación a los aromas y de acuerdo con Curic (2014), la mayoría de los compuestos aromáticos se producen durante la cocción, pero durante las reacciones enzimáticas propias de la fermentación de la masa madre, se generan muchos precursores aromáticos que contribuyen a la obtención de un pan con aroma excepcional. El aroma depende de varios parámetros como son: el tipo de harina (integral o no, de trigo o de otro cereal); las condiciones de la fermentación de la masa madre (tiempo y temperatura), así como los microorganismos involucrados en la misma; y la cocción.

Por otro lado, durante la fermentación se producen también exopolisacáridos (EPS) de origen microbiano que son excretados extracelularmente. Dependiendo de los microorganismos que los produzcan y de la fuente de carbono que utilicen en el metabolismo, variará su estructura y

la cantidad generada (Chavan y Chavan, 2011). Además, su capacidad para formar geles que favorecen la retención de agua, mejora la estructura y reduce la retrogradación del almidón (evitan el endurecimiento del pan aumentando su vida útil) (García, 2015). De esta manera, los EPS pueden mejorar las propiedades viscoelásticas de la masa, aumentar el volumen de pan, reducir la dureza de la miga y prolongar la vida útil (Torrieri et al., 2014).

Por otro lado, entre las **propiedades nutritivas y funcionales** derivadas del uso de las MMC destacan:

- **Reducción del índice glucémico**, debido al consumo de los azúcares para producir los ácidos orgánicos, etanol y CO₂.
- **Aumento de la digestibilidad**, provocado por la mayor proteólisis de las proteínas del gluten (gliadinas y gluteninas).
- **Mejora de la microbiota intestinal**, gracias a los EPS y que se comportan como prebióticos.

2 JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

El uso de las masas madre presentan una tendencia claramente creciente en su utilización, pero, actualmente, se desconoce en gran medida como los microorganismos que están presentes en ellas actúan e interaccionan. Por este motivo, el **objetivo principal** de este trabajo será revisar la bibliografía científica existente con el fin de conocer cuáles son los principales microorganismos responsables de la fermentación y obtención de las masas madre, a nivel de procariotas, (BAL homofermentativas y heterofermentativas) como de eucariotas, (levaduras). Para ello, se han planteado los siguientes objetivos parciales:

1. Determinar los principales grupos microbianos responsables de la fermentación de la masa madre.
2. Estudiar las interacciones entre los diferentes microorganismos que intervienen en la fermentación.
3. Profundizar en los efectos derivados del uso de los nutrientes de la harina por parte de los microorganismos implicados en dicha fermentación.
4. Establecer cuáles son las pautas de conservación de las masas madres en función de la microbiota que contienen.

3 METODOLOGÍA

La metodología de este trabajo está basada en la búsqueda bibliográfica de información, mediante la revisión y consulta de artículos científicos y libros, tesis doctorales y trabajos de fin de grado o de fin de máster. Toda esta información consultada y analizada nos permitirá conocer los principales microorganismos que forman parte de la microbiota de las masas madre, así como los beneficios resultantes de utilizar las MMC en las masas panarias. Para ello, se ha investigado en diferentes bases de datos como, por ejemplo, Dialnet que es un sistema abierto de información de revistas publicadas en castellano y en el que se ha recopilado mucha información. Otras bases de datos consultadas han sido: Zeguan, Alcorze, Science Direct y Google Scholar, que aportan artículos de calidad científica.

En la búsqueda de información, se utilizaron las siguientes palabras clave: microorganismos (microorganisms), fermentación (fermentation), masas madre (sourdough), efectos (effects), beneficios (benefits) y propiedades (properties). Asimismo, se empleó el operador booleano AND.

Por otra parte, también fue necesario buscar información acerca de la legislación vigente, y para ello, se consultó el Boletín Oficial del Estado (BOE), utilizando como criterios de búsqueda: masas madre, norma y pan.

Los criterios de inclusión fueron: el idioma, en el que se admitieron inglés, español y francés y el año de publicación, desde 2010 hasta 2021.

Por otro lado, los criterios de exclusión fueron tanto idiomas diferentes a los anteriormente mencionados, como los trabajos publicados en años anteriores a 2010.

Todo el proceso operativo de búsqueda de información que se utilizó para elaborar este trabajo fue manual.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Principales grupos microbianos responsables de la obtención de las masas madres

Según Cortes (2016), los principales grupos microbianos presentes en la harina y que tanto forman la microbiota de las masas madre son:

- Levaduras
- Bacterias ácido-lácticas, que pueden dividirse en dos grupos, homofermentativas y heterofermentativas.

Dentro de ambos grupos microbianos se encuentran varios géneros y especies diferentes. Para conseguir aislar e identificar los microorganismos, se han utilizado diferentes técnicas, tanto dependientes como independientes del cultivo de los microorganismos (Lhomme et al., 2014).

Las técnicas dependientes de cultivo se basan en la selección de un medio de cultivo apropiado y selectivo, teniendo en cuenta tanto los microorganismos que van a estar presentes en la masa madre, como los nutrientes específicos que van a necesitar para su desarrollo. Asimismo, se ha de considerar la aplicación de condiciones de incubación adecuadas (T^a , pH, tipo de atmósfera, etc.) y la aparición de interdependencia microbiana, es decir, la posibilidad de producirse asociaciones y/o interacciones entre los distintos microorganismos (De Vuyst, 2013). Además, la selección de colonias en los medios de cultivo puede implicar caracterizaciones fenotípicas, abarcando aspectos morfológicas y fisiológicas (De Vuyst, 2013).

Los métodos independientes de cultivo consisten en la secuenciación del DNA extraído directamente de la masa madre. Una posible desventaja que tiene esta técnica es que, a la hora de analizar el DNA, la muestra también puede incluir DNA extracelular libre y DNA de microorganismos muertos. En cualquier caso, estos procedimientos permiten la elaboración de perfiles de las comunidades microbianas de los microorganismos presentes basados en sus secuencias genéticas (diversidad de especies, dinámica comunitaria, capacidad de adaptación, seguimiento de fuentes) (Alfonzo et al. 2013).

4.1.1 Levaduras

Las levaduras propias de las masas madre han evolucionado de tal forma que se han adaptado al medio. Esto quiere decir que se han ido ajustando a las condiciones estresantes del entorno (en este caso de las MMC) como son el pH bajo, la alta concentración de hidratos de carbono y el gran número de BAL que crecen en las mismas (Huys, Daniel y De Vuyst, 2013).

A la hora de elaborar el pan con la masas madre, es importante tener en cuenta la temperatura óptima de crecimiento de estos microorganismos psicrotrofos (25 a 27°C), puesto que estos van a aportar etanol y CO₂, compuestos obtenidos de la fermentación alcohólica (Cortés, 2016).

Las levaduras son anaerobias facultativas, puesto que son capaces de realizar tanto la fermentación como la respiración dependiendo del potencial redox del medio. En el momento en el que el oxígeno no está disponible, las levaduras efectúan la fermentación, por el contrario, si hay O₂ en el medio y la concentración de azúcares es inferior al 5%, llevan a cabo la respiración.

La mayoría de las levaduras utilizan carbohidratos como principales fuentes de carbono y energía, pero también hay levaduras que pueden utilizar fuentes de carbono no convencionales. La principal fuente de energía es la glucosa, procedente a su vez de la degradación enzimática del almidón, que se transforma en piruvato mediante la glicolisis (Guerzoni et al. 2013). Asimismo, todas las levaduras tienen la particularidad de reproducirse de forma asexual (en este caso se denominada forma anamorfa o imperfecta), pero no se conoce si todas son capaces de hacerlo de forma sexual. De manera que, las levaduras se renombran cuando se identifica que se pueden reproducir sexualmente (forma teleomorfa o perfecta) (López, 2016).

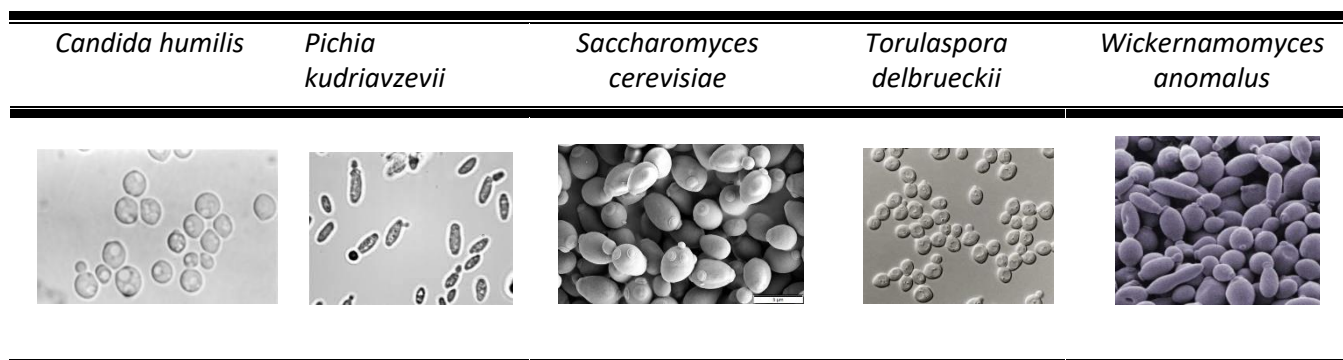
Según Huys, Daniel y De Vuyst (2013), las principales levaduras que están presentes en las masas madre pertenecen al reino Fungi, división Ascomycota, subdivisión Saccharomycotina, clase Saccharomycetes, orden Saccharomycetales y familia *Saccharomycetaceae*.

Las especies de levaduras que están presentes en las masas madres, con mayor o menor frecuencia y número, vienen recogidas en la tabla 1.

Tabla 1. Especies de levaduras detectadas en las masas madre (Huys, Daniel y De Vuyst, 2013)

Levaduras habituales	Levaduras detectadas con menos frecuencia
<i>Candida humilis</i>	<i>Candida glabrata</i>
<i>Kazachstania exigua</i> (forma anamorfa <i>Candida holmii</i>)	<i>Candida parapsilosis</i>
<i>Pichia kudriavzevii</i> (forma anamorfa <i>Candida krusei</i>)	<i>Candida stellata</i>
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Candida tropicalis</i>
<i>Torulaspora delbrueckii</i>	<i>Kazachstania unispora</i>
<i>Wickernamomyces anomalus</i> (forma anamorfa <i>Candida pelliculosa</i>)	<i>Kluyveromyces marxianus</i> (forma anamorfa <i>Candida kefyr</i>)
	<i>Meyerozyma guilliermondii</i> (forma anamorfa <i>Candida guilliermondii</i>)
	<i>Pichia membranifaciens</i> (forma anamorfa <i>Candida valida</i>)
	<i>Saccharomyces pastorianus</i>

Algunas imágenes de las levaduras principales que se pueden encontrar en las masas madre se encuentran en la figura 1.

**Figura 1.** Microfotografías de las principales levaduras presentes en las masas madre.

En relación a las levaduras que se encuentran con mayor frecuencia en las masas madre, su presencia es tan común que se puede indicar que existe una asociación con este tipo de producto. A partir de los métodos clásicos de identificación basados en la morfología y la fisiología, estas especies pueden ser fácilmente diferenciadas entre sí (Huys, Daniel y De Vuyst, 2013).

4.1.2 Bacterias ácido-lácticas

Según Cortés (2016), las BAL participan en la fermentación y acidificación de las masas madre. Estos microorganismos realizan principalmente una fermentación láctica obteniéndose ácido láctico.

Este grupo microbiano se caracteriza por ser bastante heterogéneo. Incluye bacterias Gram positivas, no esporuladas y productoras de ácido (Huys, Daniel y De Vuyst, 2013). Además, son inmóviles y suelen tener forma de cocos o de bacilos de longitud variable con un grosor de entre 0,5-0,8 μm . Asimismo, son anaerobias tolerantes, puesto que para que crezcan en medios de cultivo es necesario la presencia en el incubador de cierta cantidad de O_2 (Parra, 2010).

Por otra parte, según Parra (2010), son quimiorganotrofos, por lo que no son capaces de sintetizar todos los nutrientes que necesitan para proliferar, y necesitan captar estas sustancias del medio en el que habitan. Concretamente, suelen necesitar aminoácidos y vitaminas del grupo B (lactoflavina, ácido nicotínico, tiamina o B1, biotina o B7, ácido pantoténico o B5 y ácido fólico o B9). A su vez, emplean los carbohidratos presentes en el medio como fuente de energía, y tras la fermentación de los mismos, generan ácido láctico y otros productos como el ácido acético, etanol y CO_2 .

Las BAL se pueden clasificar en función a su metabolismo fermentativo en tres grupos: a) heterofermentativas obligadas, b) heterofermentativas facultativas y c) homofermentativas obligadas (Martín, 2018). Las **homofermentativas obligadas** transforman los azúcares de la harina, concretamente las hexosas, en ácido láctico. En cambio, las **heterofermentativas obligadas** y **facultativas** fermentan las pentosas para producir ácido láctico, ácido acético y etanol (Lancetti, 2017). Además, las bacterias homofermentativas tienen una temperatura óptima de crecimiento de 35°C, mientras que las heterofermentativas es en torno a 20°C (Puratos Group, 2019).

Las especies de BAL que se encuentran presentes habitualmente en las masas madre y que suelen participar en la fermentación de las mismas, se recopilan en la tabla 2.

Tabla 2. Especies de BAL presentes en las masas madre (Huys, Daniel, y De Vuyst, 2013).

Heterofermentativos obligados	Heterofermentativos facultativos	Homofermentativos obligados
<i>Lactobacillus acidifarinae</i>	<i>Lb. alimentarius</i>	<i>Enterococcus casseliflavus</i>
<i>Lb. brevis</i>	<i>Lb. casei/paracasei</i>	<i>E. durans</i>
<i>Lb. buchneri</i>	<i>Lb. coleohominis</i>	<i>E. faecalis</i>
<i>Lb. cellobiosus</i>	<i>Lb. kimchi</i>	<i>E. faecium</i>
<i>Lb. collinoides</i>	<i>Lb. paralimentarius</i>	<i>Lb. acidophilus</i>
<i>Lb. crustorum</i>	<i>Lb. pentosus</i>	<i>Lb. amylolyticus</i>
<i>Lb. curvatus</i>	<i>Lb. perolens</i>	<i>Lb. amylovorus</i>
<i>Lb. fermentum</i>	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lb. crispatus</i>
<i>Lb. fructivorans</i>	<i>Lb. sakei</i>	<i>Lb. delbrueckii</i>
<i>Lb. frumenti</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>	<i>Lb. farciminis</i>
<i>Lb. hammesii</i>	<i>P. dextrinicus</i>	<i>Lb. gallinarum</i>
<i>Lb. hilgardii</i>	<i>P. pentosaceus</i>	<i>Lb. gasseri</i>
<i>Lb. homohiochii</i>		<i>Lb. helveticus</i>
<i>Lb. kefir</i>		<i>Lb. johnsonii</i>
<i>Lb. kunkeei</i>		<i>Lb. mindensis</i>
<i>Lb. lindneri</i>		<i>Lb. nagelii</i>
<i>Lb. mucosae</i>		<i>Lb. salivarius</i>
<i>Lb. namurensis</i>		<i>Lactococcus lactis</i>
<i>Lb. nantensis</i>		<i>Streptococcus constellatus</i>
<i>Lb. nodensis</i>		<i>S. constellatus</i>
<i>Lb. oris</i>		<i>S. equinus</i>
<i>Lb. panis</i>		<i>S. suis</i>
<i>Lb. parabuchneri</i>		
<i>Lb. pontis</i>		
<i>Lb. sanfranciscensis</i>		
<i>Lb. reuteri</i>		
<i>Leuconostoc citreum</i>		
<i>Le. gelidum</i>		
<i>Le. mesenteroides</i>		
<i>Weissella cibaria</i>		
<i>W. confusa</i>		
<i>W. hellenica</i>		
<i>W. kandleri</i>		
<i>W. paramesenteroides</i>		
<i>W. viridescens</i>		

En la figura 2, se pueden apreciar algunas imágenes de las BAL principales que se pueden encontrar en las masas madre.

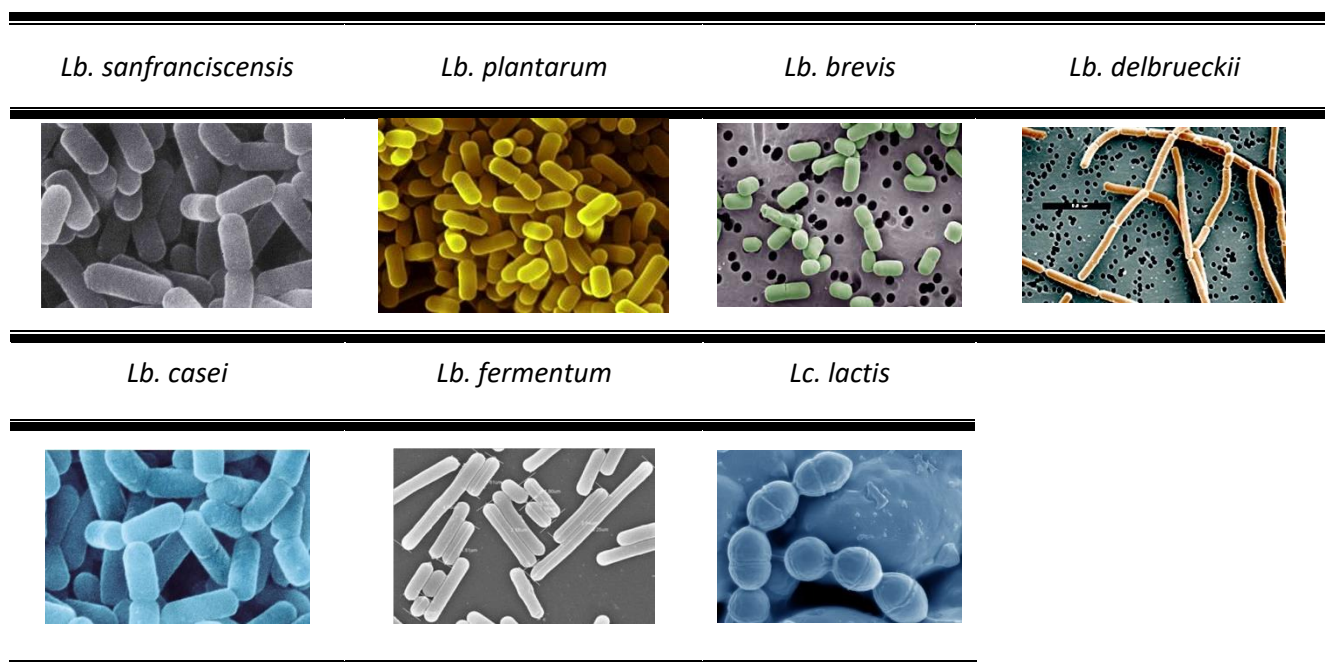


Figura 2. Microfotografías de las principales BAL presentes en las masas madre

Según Gänzle y Gobbetti (2013), la gran diversidad de BAL que pueden colonizar las masa madre, viene dada por la gran cantidad de factores intrínsecos que afectan a su crecimiento (pH, temperatura, concentración de NaCl, nutrientes, etc.) que las diferencia, así como su forma de afrontar situaciones de estrés.

Los diferentes tipos de masa madre que existen seleccionan los organismos que se van a desarrollar en ellas. En general, en las **masas madre de tipo I**, que se caracterizan por lograr la fermentación sin adicionar levadura de panadería, destacan los microorganismos que crecen rápidamente en sustratos procedentes de cereales. Bajo estas condiciones, *Lb. sanfranciscensis* es el predominante (Cortés, 2016; Gänzle y Gobbetti, 2013). En las **masas madres de tipo II**, caracterizadas por tiempos largos de fermentación, son los microorganismos más tolerantes al ácido los dominantes como *Lb. pontis*, *Lb. fermentum* y *Lb. reuteri* (Gänzle y Gobbetti, 2013).

4.2 Sinergias entre los microorganismos

Los microorganismos que están en las masas madres forman comunidades microbianas. Dentro de este complejo mundo microbiano, se suelen producir asociaciones estables entre las levaduras y las BAL y/o interacciones entre las diferentes especies de BAL. Estas asociaciones microbianas reflejan la capacidad metabólica de las diferentes especies microbianas involucradas, dando lugar a relaciones tróficas que son relevantes en el ecosistema de las masas madre (De Vuys et al. 2013).

Algunos ejemplos de asociacionismo microbiano entre levaduras y BAL se presentan en la tabla 3.

Tabla 3. Sinergias entre levaduras y BAL presentes en las masas madre (De Vuys et al. 2013).

Levaduras	Bacterias ácido lácticas
<i>Kazachstania exigua</i> (maltosa -, ácidotolerante)	<i>Lb. sanfranciscensis</i> (maltosa +)
<i>Candida humilis</i> (maltosa -, ácidotolerante)	<i>Lb. sanfranciscensis</i>
<i>Kazachstania barnettii</i> (maltosa -)	<i>Lb. sanfranciscensis</i>
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (maltosa +)	<i>Lb. plantarum</i> (glucosa + y fructosa+)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> y <i>Candida milleri</i>	<i>Lb. sanfranciscensis</i> y <i>Lb. plantarum</i> (<i>Lb. alimentarius</i> , o <i>Lb. brevis</i>)

Por otro lado, también pueden producirse sustancias limitantes del crecimiento, como, por ejemplo, la producción de etanol por parte de las levaduras que implica un menor desarrollo de las BAL (Galle, 2013).

4.3 Fermentación de las masas madre

Según Ferrari, Vinderola y Weill (2020), la cantidad de hidratos de carbono sencillos presentes en la harina es muy baja (< 2%) pero gracias a la degradación del almidón que se produce por la acción de las enzimas endógenas de la harina (α y β amilasas), se generan maltodextrinas, maltosas y glucosas, aumentando la concentración de maltosa inicial de 10 a 15 veces.

La fermentación de las masas madre dependerá del tipo de harina, de su contenido acuoso, el tiempo y la temperatura de fermentación, así como de los microorganismos presentes en la harina (Minervini et al., 2019).

En el estudio realizado por Zhang et al. (2019), se utilizó una harina comprada en un mercado local de China. Se emplearon 5 muestras de masas madre de diferentes panaderías de distintas provincias de China que fueron nominadas como, Hn (de la provincia de Henan), Sx (de la provincia de Shanxi), Gs (de la provincia de Gansu), Hf (de la provincia de Anhui) y Hr (de la provincia de Heilongjiang). Todas las muestras se mantuvieron a 4 °C durante el transporte y antes de su uso.

Los cambios en las comunidades de LAB y levadura que presentan las muestras se pueden observar en la figura 3. En la primera etapa de fermentación (después de 6 h), los recuentos microbianos aumentaron rápidamente tanto para las poblaciones de LAB como de levadura. Por ejemplo, para la muestra de Hf, los recuentos de LAB aumentaron de 5,7 log/(ufc/g) a 7,2 log/(ufc/g) y el recuento de levaduras aumentó de 5,1 log/(ufc/g) a 7,5 log/(ufc/g). Sin embargo, los recuentos de LAB disminuyeron lentamente en la etapa de fermentación secundaria (después de 12 h), mientras que los recuentos de levaduras aumentaron lentamente y alcanzaron un número máximo.

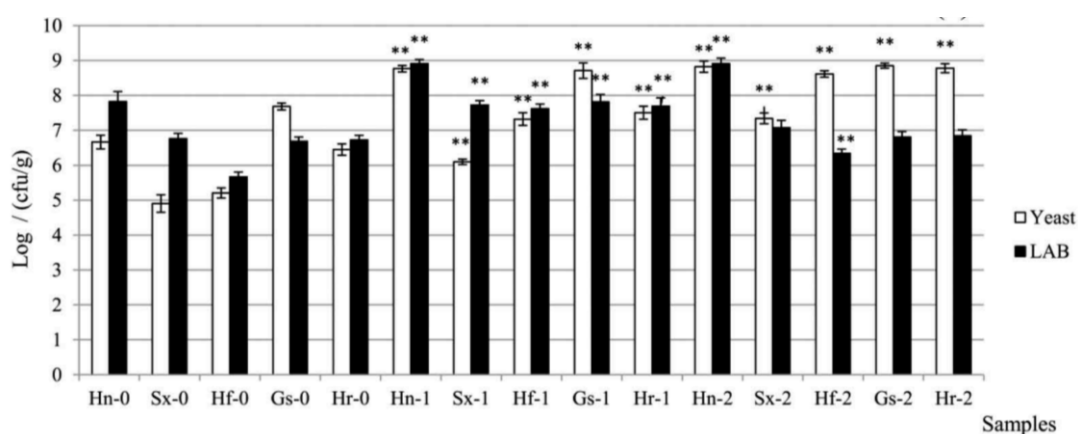


Figura 3. Cambios en los microorganismos (0: etapa inicial de la fermentación; 1: primera etapa de la fermentación; 2, etapa de fermentación secundaria) durante la fermentación de la masa madre.

Generalmente, el crecimiento de las levaduras y de las BAL se ve afectado por factores del medio como son el pH, la temperatura de fermentación, el potencial de óxido-reducción, la presión osmótica, el rendimiento de las propias levaduras, así como por los metabolitos producidos durante la fermentación como el ácido láctico, el acetato, el CO₂ o el etanol (Zhang et al., 2019).

En este estudio se observó una disminución gradual de los valores de pH durante todo el proceso de fermentación de la masa madre. En cambio, los valores de acidez total titulable (TTA) aumentaron ligeramente (figura 4). Por este motivo, en la segunda parte de la fermentación, es cuando mayor cantidad de levaduras hay.

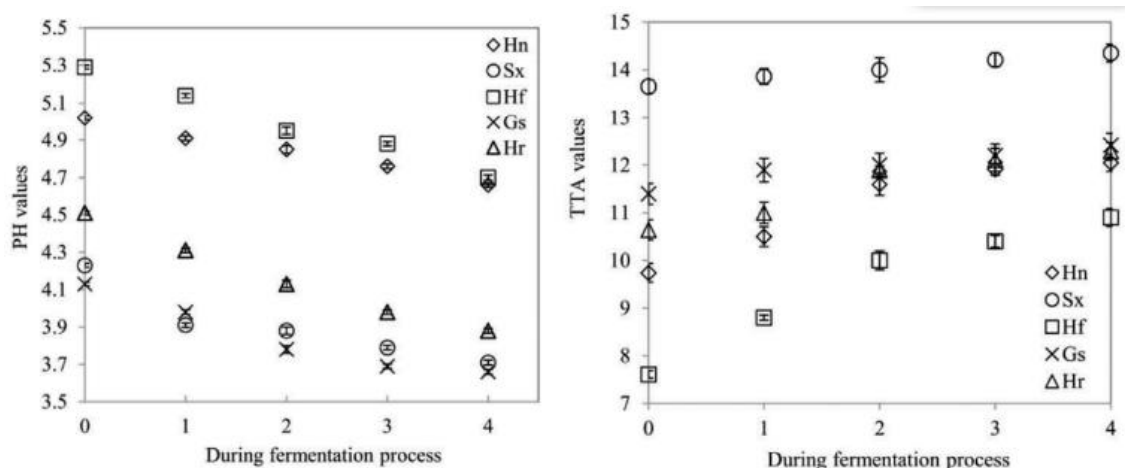


Figura 4. Cambios en los valores de pH y TTA durante la fermentación de la masa madre (1: 3 horas; 2: 6 horas; 3: 9 horas; 4: 12 horas)

4.3.1 Fermentación alcohólica

Según Jayaram (2014), la fermentación alcohólica consiste en el consumo de los azúcares por parte de las levaduras y en la obtención de CO_2 y etanol. Las levaduras son aero-anaerobias facultativas, que significa que son capaces de llevar a cabo tanto la respiración como la fermentación. En el momento en el que realizan la respiración, debido a la presencia de O_2 , utilizan los azúcares como la glucosa para producir H_2O_2 , CO_2 y ATP mediante la ruta metabólica de la glicólisis (figura 5).

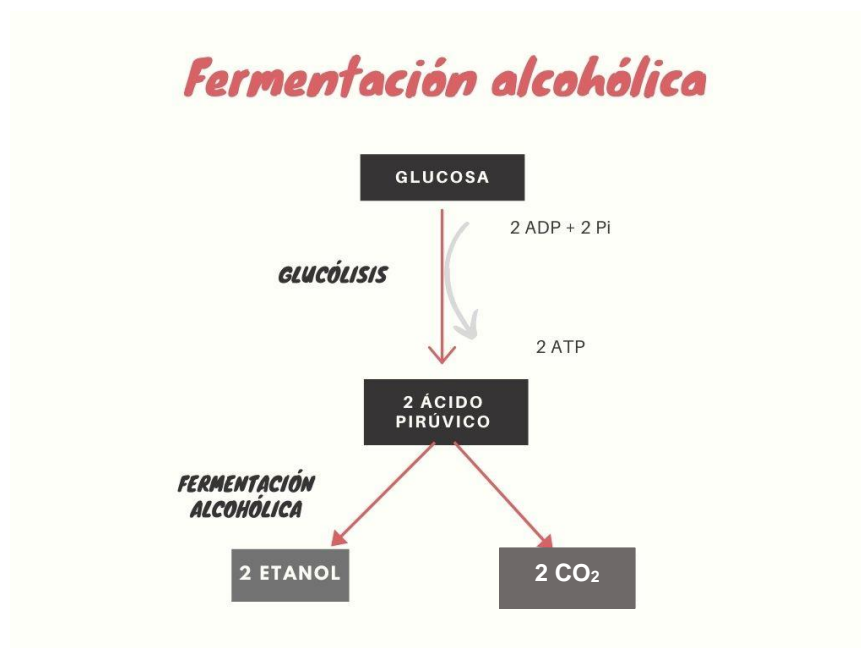


Figura 5. Fermentación alcohólica de las levaduras (Elaboración propia).

La cantidad de glucosa va aumentando durante la fermentación puesto que las levaduras poseen el enzima invertasa y degradan la sacarosa presente en la harina produciendo glucosa y fructosa (Chavan y Chavan, 2011). Las levaduras poseen también maltasas para degradar la maltosa. Esta, además, es mucho más abundante que la sacarosa.

Bajo condiciones anaeróbicas, las levaduras realizan la fermentación, generando etanol y CO_2 quedando este último retenido en la red proteica del gluten formada tras la hidratación de la harina. Por otra parte, el etanol generado se volatiliza durante la cocción de la masa (Sasano, 2013).

4.3.2 Fermentación homoláctica

La fermentación homoláctica la realizan las BAL homofermentativas. Estas emplean los azúcares fermentables (no son capaces de fermentar las pentosas, únicamente las hexosas) que están presentes en la harina para producir sobretodo ácido láctico. Principalmente, se utiliza un mol de glucosa, que sigue la vía glicolítica (Embden-Meyerhof-Parnas) donde, tras varias reacciones sucesivas se transforma en dos moléculas de ácido pirúvico, obteniéndose como resultado dos moléculas de ATP (Ganzle y Gobbetti, 2013).

Posteriormente, estas moléculas de ácido pirúvico son transformadas, tras varias reacciones en cadena, en dos moléculas de ácido láctico (figura 6) (Chavan y Chavan, 2011).

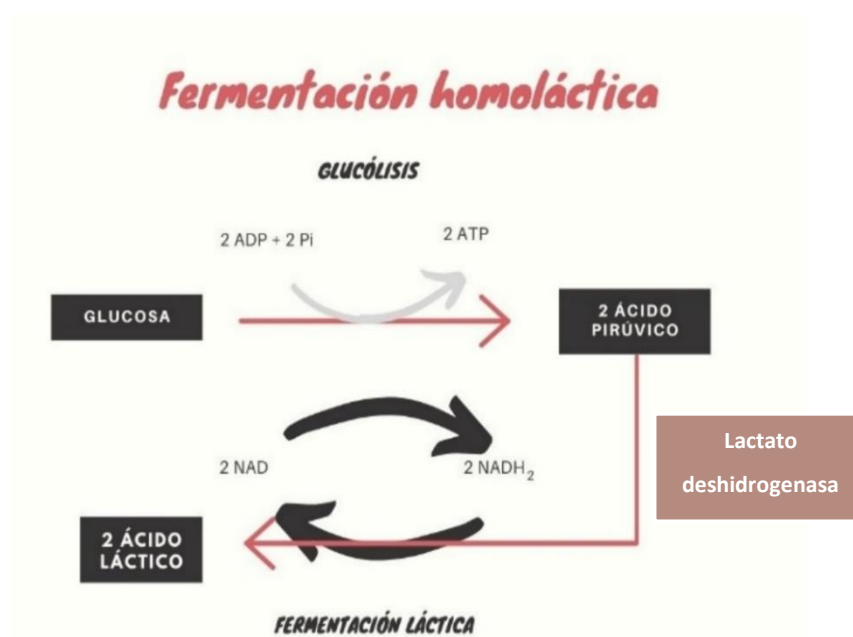


Figura 6. Fermentación homoláctica de las BAL (Elaboración propia).

4.3.3 Fermentación heteroláctica

Según Chavan y Chavan (2011), la fermentación heteroláctica la llevan a cabo las BAL heterofermentativas. En este tipo de fermentación, las BAL emplean la glucosa para producir, aparte de ácido láctico, ácido acético, etanol y CO_2 , a través de la vía 6-fosfogluconato/fosfocetolasa. A partir de esta vía se obtienen una molécula de ATP (figura 7) (Gänzle y Gobbetti, 2013).

Fermentación heteroláctica

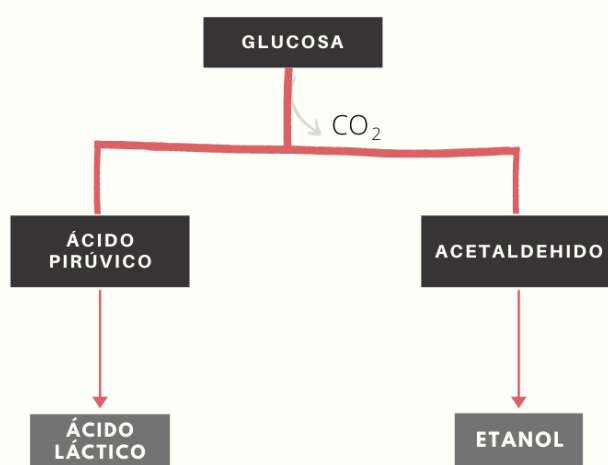


Figura 7. Fermentación heteroláctica de las BAL (Elaboración propia)

4.4 Influencia de la harina en las características de las masas madre

La elaboración de las masas madre puede hacerse con harinas blancas o refinadas o con harinas integrales obtenidas del grano de trigo. Estas últimas se caracterizan por no haberse separado la cubierta del grano (pericarpio y aleurona) en el proceso de molienda del trigo (Van Kerrebroeck, Maes y De Vuyst, 2017).

Taccari et al. (2016), estudiaron la caracterización de la microbiota de las masas madre teniendo en cuenta el medio de cultivo en el que se va a inocular la muestra y el tipo de harina utilizado, distinguiendo entre harinas refinadas y harinas integrales. En este estudio, se emplearon tres harinas de trigo blando (*T. aestivum*), una de tipo integral (FA) y las otras dos refinadas (FB y FC). Tanto FA como FB se obtuvieron mediante la molienda de rodillos de acero, pero FC se obtuvo mediante molienda de piedras.

Con estos tipos de harinas se elaboraron 6 tipos de masas madres diferentes, unas a niveles de laboratorio y otras de panadería artesanal que se denominaron "SA-l", "SB-l", y "SC-l", y "SA-b", "SB-b", "SC-b", respectivamente.

Para los recuentos de levaduras se utilizó el medio Wallestein Laboratory Nutrient (WLN) y para los de las BAL, se emplearon los medios agar modificado de Man, Rogosa y Sharpe (mMRS), y agar modificado Sourdough Bacteria (mSDB).

Los recuentos medios de BAL presuntivos (SA-l, SB-l y SC-l) alcanzaron valores de 9,2 log ufc/g, independientemente del medio de crecimiento utilizado (mSDB o mMRS). Al mismo tiempo, las masas madre de la panadería artesanal se caracterizaron por unos recuentos de BAL de 9.0 log ufc/g (SA-b en mMRS; SA-b, SB-b, y SC-b, en mSDB) y $> 8,0$ log ufc/g (SB-b y SC-b en mMRS), respectivamente como se puede apreciar en la figura 8.

No se pudo hacer recuento de las levaduras en las masas madres iniciales (t0) preparadas a nivel de laboratorio puesto que estaban por debajo del límite de detección (2 log ufc/g). Las masas madre elaboradas en la panadería artesanal contenían una densidad de levaduras significativamente superior, al menos una unidad logarítmica, con respecto las BAL (figura 8).

En todas las masas madre analizadas, entre el primer y el segundo día de incubación se produjo una caída del pH por debajo de 4,5 manteniéndose prácticamente estable hasta los 20 días. Se observaron diferencias en las etapas de refresco, donde se alcanzaron valores de pH 4.0 (permaneciendo casi constantes hasta el final del período de incubación).

A modo de conclusión se puede señalar que, las harinas integrales aportan una mayor cantidad de BAL y levaduras, por lo que su utilización para elaborar de las masas madre favorecerá las características organolépticas finales del pan resultante.

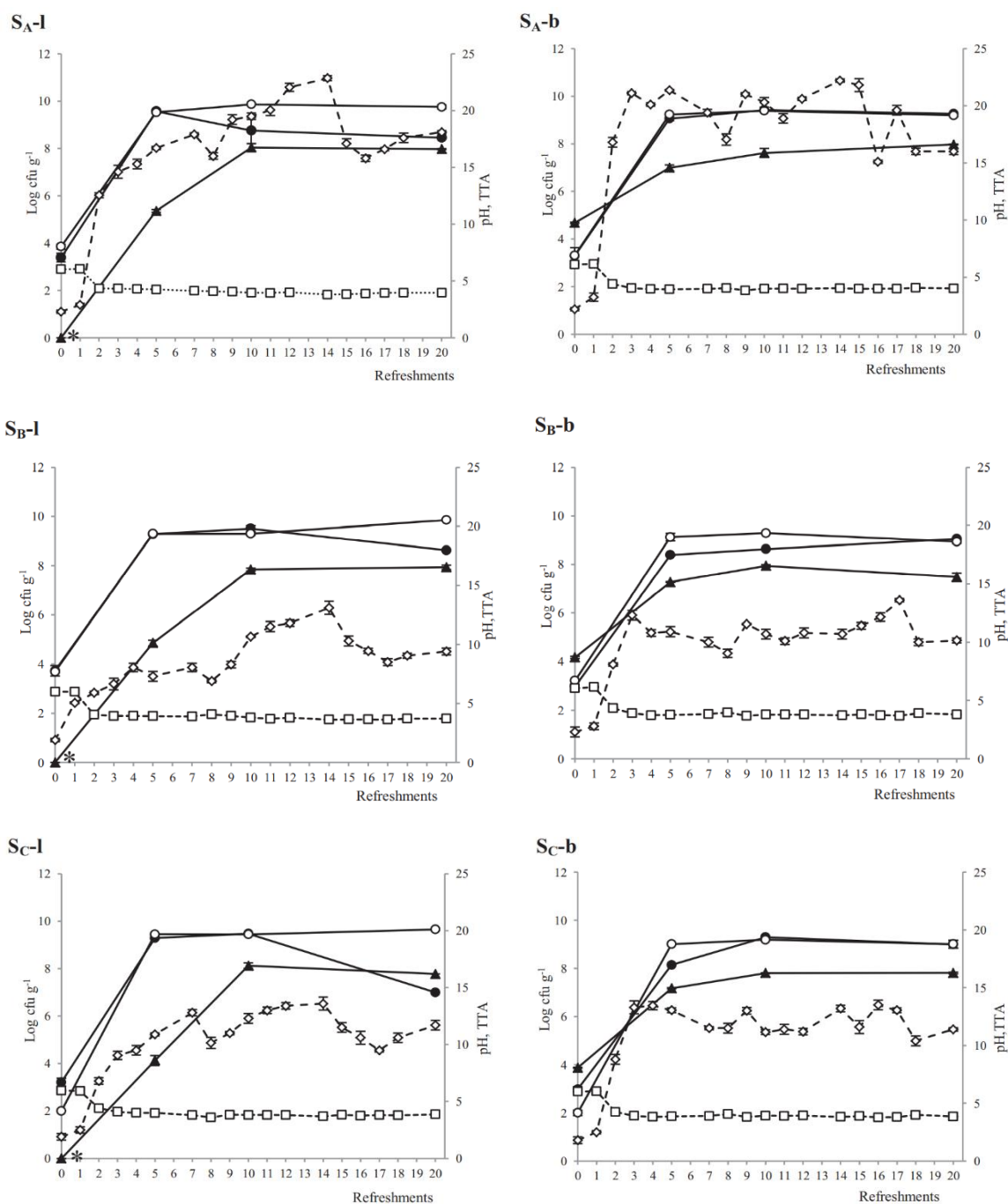


Figura 8. Recuentos de BAL y levaduras, evaluados en medios selectivos mMRS (\bullet), mSDB (\circ) y WLN (\blacktriangle) y cinética de la acidificación (pH \square y TTA \diamond) de masas madre de harina integral (SA) y refinada (SB y SC) incubadas diariamente en laboratorio (etiquetadas como "l") y las condiciones de la panadería artesanal (etiquetado como "b") para 20 d; los números del eje x indican días de incubación. El día 0 corresponde a la primera masa de agua y harina muestreada y analizada antes de la fermentación, mientras que los días 1 a 20 corresponden a la masa madre muestreada inmediatamente antes de cada refresco diario. Se muestran las medias de 2 experimentos independientes

4.5 Conservación de las masas madre

Existen diferentes métodos de conservación de las masas madre, como la congelación, la liofilización, el secado, etc. Según Morera (2020) el método más adecuado para mantener mejor sus características es bajo refrigeración. El resto de los métodos de conservación son utilizados en situaciones muy concretas y a largo plazo. Sin embargo, la refrigeración preserva las propiedades de las masas madre tanto a corto como a largo plazo.

En el caso que se requiera que la masa madre perdure durante más tiempo, se le puede añadir la mitad de harina de su peso. Además, el envase donde se mantiene debe tener cierre hermético para evitar que penetre el aire. Con ello, se consigue que los microorganismos presentes en la MMC, tengan reservas suficientes para alimentarse, y por otro lado, reducir la A_w para que la microbiota ralentice su metabolismo. Este método es conocido como “solidificación de la masa madre” y se suele emplear en las ocasiones en las que se quiere trasladar la masa madre de un sitio a otro.

Otro de los métodos de conservación a largo plazo que pueden realizarse a la masa madre es el secado. Esta técnica consiste en extender la masa madre sobre una hoja de papel de horno en una capa muy fina. Cuanto más fina sea la capa de masa madre más rápida será la deshidratación. Los parámetros de secado más recomendables son: humedad relativa (HR) en torno al 30% y temperatura ambiente (20-25°C). Bajo estas condiciones el secado puede durar 24 horas. En el momento en el que la masa madre está deshidratada o seca, esta se puede trocear o pulverizar en las condiciones más asépticas posibles para evitar contaminaciones indeseadas que puedan alterarla. Si se quiere reconstituir la masa madre, se puede adicionar por cada 10g de masa madre seca, 15g de harina y 25mL de agua (Un Pedazo de Pan, 2012).

Finalmente, se puede congelar la masa madre para que se conserve durante un largo tiempo. Este método provoca que parte de la microbiota de la masa madre muera, por ese motivo, se ha de refrescar la masa madre de 3 o 4 veces en el momento en el que está se descongele.

5 CONCLUSIONES

Tras la revisión de la bibliografía científica existente relativa a las masas madre, se han obtenido las siguientes conclusiones:

- Las masas madre contienen tanto BAL homo y heterofermentativas como levaduras encargadas de su fermentación. Las principales BAL son *Lb. sanfranciscensis*, *Lb. plantarum*, *Lb. brevis*, *Lb. delbrueckii*, *Lb. casei*, *Lc. lactis* y *Lb. fermentum*, mientras que las principales levaduras encontradas en las masas madre son *Candida humilis*, *K. exigua*, *P. kudriavzevii*, *S. cerevisiae*, *Torulaspora delbrueckii* y *Wickernamomyces anomalus*
- Cada tipo de microorganismo se encarga de un tipo de fermentación diferente, empleando sustratos distintos y aportando a la masa madre unas características específicas.
- Las características específicas de las masas madre vienen determinadas por la interacción de manera sinérgica de las BAL y las levaduras
- El mejor método de conservación de la masa madre es bajo refrigeración, una vez adicionada una cantidad concreta de harina en un recipiente herméticamente cerrado.
- Se requiere seguir estudiando las características de las masas madre, así como su microbiota, para poder completar muchas dudas que todavía quedan sin resolver.

CONCLUSIONS

After a exhaustive review of the existing scientific literature concerning the sourdough, the following conclusions have been obtained:

- The sourdough contain homo and heterofermentative BAL and yeast responsible for fermentation. The main BAL are *Lb. sanfranciscensis*, *Lb. plantarum*, *Lb. brevis*, *Lb. delbrueckii*, *Lb. casei*, *Lc. lactis* and *Lb. fermentum*, while the main yeasts found in the mother masses are *Candida humilis*, *K. exigua*, *P. kudriavzevii*, *S. cerevisiae*, *Torulaspora delbrueckii* and *Wickernamomyces anomalus*.

- Each type of microorganism is responsible for a different type of fermentation, using different substrates and providing the sourdough specific characteristics.
- The specific characteristics of the sourdough are determined by the synergistic interaction of BAL and yeasts.
- The best way to preserve the sourdough is to store it in the refrigerator after adding a certain amount of flour in a hermetically sealed container.
- It is necessary to continue studying the characteristics of the sourdough, as well as their microbiota, to be able to complete many doubts that still remain unresolved.

VALORACIÓN PERSONAL

Gracias a la elaboración del Trabajo de Fin de Grado he podido adquirir numerosas competencias. Dichas competencias se basan en: la gestión de la información, búsqueda de fuentes, recogida y análisis de la información, puesto que para la redacción del mismo he tenido que investigar sobre el tema en varias plataformas digitales; el uso de las TICs, ya que se tiene que elaborar en formato PDF empleando un ordenador; el trabajar de manera autónoma, debido a que, aunque pregunte las dudas a mis tutores, el trabajo es individual; y la transmisión de la información de manera escrita en castellano y en inglés, porque tanto el resumen como las conclusiones hay que traducirlas al inglés. Además, he comprendido los conocimientos en el área de la ciencia de la panificación.

6 BIBLIOGRAFÍA

Alfonzo, A., Ventimiglia, G., Corona, O., Di Gerlando, R., Gaglio, R., Francesca, N., Moschetti, G., y Settanni, L. (2013). "Diversity and technological potential of lactic acid bacteria of wheat flours". *Food Microbiology*, 36(2), pp. 343-354. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.07.003>

Boserman, F. (2021). *Masa madre natural*. Disponible en: <http://www.masamadrenatural.com/refrescar-la-masa-madre/> [Consultado 29-03-2021]

Chapela (2020). *Refrescos masa madre*. Disponible en: <https://www.chapela.es/glosario/refrescos-masa-madre/> [Consultado 03-06-2021]

Chavan, R. S., y Chavan, S. R. (2011). "Sourdough Technology—A Traditional Way for Wholesome Foods: A Review". *Food Science and Food Safety*, 10(1), pp. 170-183. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2011.00148.x>

Corsetti, A. (2013). "Technology of Sourdough Fermentation and Sourdough Applications". En: Gobbetti, M., y Gänzle, M. (Coord.). *Handbook on Sourdough Biotechnology*. New York: Springer Science + Bussines Media.

Cortés, A. C. (2016). *Impacto de la microbiota en las características de panes elaborados con masas madre*. Trabajo de Fin de Grado. Universidad de Zaragoza

Curic, D., Novotni, D., y Smerdel, B. (2014). "Bread Making". En: Ferreira, R. y Reis, P. (Coord.). *Engineering Aspects of cereal and Cereal-Based Products*. New York: Taylor and Francis Group, pp. 149-174

De Vuyst, L., Van Kerrebroeck, S., Harth, H., Huys, G., Daniel, H. M., y Weckx, S. (2013). "Microbial ecology of sourdough fermentations: diverse or uniform?". *Food Microbiology*, 53(1), pp. 11-29. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.06.002>

Ferrari, A., Vinderola, G., y Weill, R. (2020). *Alimentos fermentados: microbiología, nutrición, salud y cultura*. Argentina: Asociación Civil Danone para la Nutrición, la Salud y la Calidad de Vida.

Galle, S. (2013). "Sourdough: A Toll to Improve Bread Structure". En: Gobbetti, M. y Gänzle, M. (Coord.). *Handbook on Sourdough Biotechnology*. New York: Springer Science + Bussines Media.

Gänzle, M., y Gobbetti, M. (2013). "Physiology and Biochemistry of Sourdough Yeasts". En: Gobbetti, M., y Gänzle, M. (Coord.). *Handbook on Sourdough Biotechnology*. New York: Springer Science + Bussines Media.

Gänzle, M., y Gobbetti, M. (2013). "Physiology and Biochemistry of Lactic Acid Bacteria". En: Gobbetti, M., y Gänzle, M. (Coord.). *Handbook on Sourdough Biotechnology*. New York: Springer Science + Bussines Media.

García, I. (2015). *Estrategias biotecnológicas para reducir el contenido de fitatos en productos fermentados de origen vegetal mediante fitasas de bifidobacterias*. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.

Guerzoni, M. E., Serrazanetti, D. I., Vernocchi, P., y Gianotti, A. (2013). "Physiology and Biochemistry of Sourdough Yeasts". En: Gobbetti, M. y Gänzle, M. (Coord.). *Handbook on Sourdough Biotechnology*. New York: Springer Science + Bussines Media.

Huys, G., Daniel, H. M., y De Vuyst, L. (2013). "Taxonomy and Biodiversity of Sourdough Yeasts and Lactic Acid Bacteria". En: Gobbetti, M., y Gänzle, M. (Coord.). *Handbook on Sourdough Biotechnology*. New York: Springer Science + Bussines Media.

Innograin (2020). Innograin: Grupo de investigación y blog sobre cereales, legumbres y otros granos. Disponible en: <https://innograin.uva.es/2020/11/24/masas-madre/> [Consultado 17-03-2021].

Jayaram, V. B., Cuyvers, S., Verstrepen, K. J., Delcour, J. A., y Courtin, C. M. (2014). "Succinic acid in levels produced by yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) during fermentation strongly impacts wheat bread dough properties". *Food Chemistry*, 151(1), pp. 421–428. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.025>

Lancetti, R. P. (2017). *Desarrollo de masas madre y evaluación de propiedades reológicas y tecnológicas de panificados*. Trabajo Fin de Grado. Universidad de Córdoba.

Lara, I. (2015). *Diseño de pan con masa madre y microalgas*. Trabajo de Fin de Grado. Universidad Politécnica de Valencia.

Lhomme, E., Urien, C., Legrand, J., Dousset, X., Onno, B., y Sicard, D. (2014). "Sourdough microbial community dynamics: An analysis during French organic bread-making processes". *Food Microbiology*, 53(A), pp. 1-10. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.11.014>

López, F. (2016). *Molecular mechanisms of growth and development inhibition in fungi and plants by chitosan*. Tesis Doctoral. Universidad de Alicante.

Martín, M. L. (2018). *Utilización biotecnológica de los microorganismos en la elaboración de productos alimentarios*. Trabajo de Fin de Grado. Universidad de Zaragoza.

Minervini, F., Lattanzi, A., Di Cagno, R., y Gobbetti, M. (2012). "Influence of Artisan Bakery- or Laboratory-Propagated Sourdoughs on the Diversity of Lactic Acid Bacterium and Yeast Microbiotas". *Applied and Environmental Microbiology*, 15(78), pp. 5328-5340. Disponible en: [Sourdough diversity BAL and Yeast.pdf](#) [Consultado 08-04-2021].

Moreira, J. (2020). *¿Cómo conservar una masa madre?*. [Youtube]. 8 de abril. Disponible en: <https://www.youtube.com/watch?v=br329soHzKM> [Consultado 09-05-2021]

Parra, R., A. (2010). "Review. Bacterias Ácido-Lácticas: papel funcional en los alimentos". *Revista de la Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 8(1), pp. Disponible en: <https://revistas.unicauca.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/724> [Consultado 22-04-2021]

Pétel C., Onno B., y Prost C. (2017). "Sourdough volatile compounds and their contribution to bread: A review". *Trends in Food Science y Technology*, (59), pp. 105–123. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.10.015>

Puratos Group. (2019). *The science behind sourdough*. [Youtube]. 3 de octubre. Disponible en: https://youtu.be/l_8UDwFETZo [Consultado 05-05-2021].

Ramos, I. (2018). "Aprendiendo de las masas madre". *La Tahona*, 146, pp. 12-13. Disponible en: https://www.revistalatahona.com/wp-content/uploads/2018/05/Tahona_146_web.pdf [Consultado 26-02-2021]

Real Decreto 308/2019, de 26 de abril, por el que se aprueba la norma de calidad para el pan.

Sasano, Y., Haitani, Y., Ohtsu, I., Shima, J., y Takagi, H. (2012). "Proline accumulation in baker's yeast enhances high-sucrose stress tolerance and fermentation ability in sweet dough". *International Journal of Food Microbiology*, 152(1), pp. 40-43. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.10.004>

Taccari, M., Aquilanti, L., Polverigiani, S., Osimani, A., Garofalo, C., MilanoviC, V., y Clementi, F. (2016). "Microbial Diversity of Type I Sourdoughs Prepared and Back-Slopped with Wholemeal and Refined Soft (*Triticum aestivum*) Wheat Flours". *Journal of Food Science*, 0(0), pp. 1-10. DOI:

Torrieri, E., Pepe, O., Ventorino, V., Masi, P., y Cavella, S. (2014). "Effect of sourdough at different concentrations on quality and shelf life of bread". *LWT - Food Science and Technology*, 56, pp. 508-516. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.12.005>

Un Pedazo de Pan (2012). La masa madre paso a paso (VI): conservar la masa madre. Disponible en: <http://unpedazodepan.es/la-masa-madre-paso-paso-vi-conservar-la/> [Consultado 08-06-2021].

Van Kerrebroeck, S., Maes, D., y De Vuyst, L. (2017). "Sourdoughs as a function of their species diversity and process conditions, a meta-analysis". *Trends in Food Science and Technology*, 68(1), pp. 152-159. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.08.016>

Zhang, G., Zhang, w., Sadiq, F. A., Arbab, S. H., y He, G. (2019). "Microbiota succession and metabolite changes during the traditional sourdough fermentation of Chinese steamed bread". *CyTA – Journal of Food*, 1(17), pp. 172-179. DOI: <https://doi.org/10.1080/19476337.2019.1569166>